



doi: 10.15407/ukrbotj75.03.283

Змінення гравітації як фактор впливу на початок клітинного циклу рослин

Ольга А. АРТЕМЕНКО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01004, Україна
oartemenko66@gmail.com

Artemenko O.A. **Changing gravity as a factor of influence at the beginning of the plants cell cycle.** Ukr. Bot. J., 2018, 75(3): 283–286.

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01004, Ukraine

Abstract. This article is a review of the literature in order to determine the effect of altered gravity on the proliferative activity of plant cells. On the basis of a deep and comprehensive study of the influence of abiotic factors on living organisms and the reactions of their adaptation in conditions of space flight, it is possible to predict the reliability of life support systems. Cell biology research by altered gravity conditions and clarify of the cellular and molecular mechanisms of plants gravisensitive are the leading areas of modern space biology. They are aimed at solving the fundamental problems of cell biology and the knowledge of basic metabolic processes in the cell, a theory of growth, development and reproduction of plant organisms in microgravity. Higher plants and other photosynthetic organisms are key components of bioregenerative systems to ensure the required quantity and quality of food, maintain the necessary atmosphere, recycle waste and provide drinking water. Study in the field of space biology contribute to a clarification of the fundamental problems of space biology and create the controlled human life-support systems in manned space flight and the development of biotechnology. To study the effect of microgravity on the activity of cell proliferation, it is necessary to study both the molecular mechanisms of cell cycle regulation and the development of plants under these conditions. The use of clinorotation makes it possible to reveal the effect of simulated gravity on events in the cell during the cell cycle – exit from the state of rest and advance along the G1 and S-phases of the cycle. The δ -cyclins (belonging to the class of D-cyclins), which are very important for the passage of the presynthetic phase of the cell, are of greatest interest for the study and are responsible for the cell exit from the resting state and the transition to the phase of DNA synthesis. In addition, in experiments with different types of higher plants, a variety of their growth response to the effect of altered gravity under conditions of space experiments or clinorotation is observed: either growth stimulation or its inhibition is revealed, or the absence of noticeable changes in the intensity of this process.

Keywords: cell cycle, microgravity, clinorotation, proliferation, gravisensitive, cyclins, genes expression

Дослідження впливу реальної та симульованої мікрогравітації (кліностатування) на рослини висвітлили досить неоднозначні результати (Artemenko, 2001). З аналізу літературних даних видно наявність певних суперечностей щодо зниження або збільшення проліферативної активності рослинних клітин і різноманітності ростових реакцій в цих умовах (Merkys, 1990; Aarrouf, 1999). Також виявлено як пригнічення росту та розмноження рослин, так і стимуляцію цих процесів, зміни параметрів клітинного циклу та інше, що підтверджує гіпотезу про найбільшу гравічутливість у рослин тих клітин, що діляться або знаходяться у стані активного

метаболізму (Kordyum, 1997; Kordyum, 2014). Така неоднозначність літературних даних спонукала до детального вивчення інформації щодо цього питання, оскільки отримані дані про вплив мікрогравітації на процес та тривалість фаз клітинного циклу, а також подальші зміни росту та розвитку рослин в даних умовах є ключовими при створенні бортових оранжерей та біорегенеративних систем життєзабезпечення. Дана стаття є оглядовою з метою визначення впливу зміненої гравітації на проліферативну активність рослинних клітин.

Реальна мікрогравітація супроводжується радіацією, вібрацією та іншими факторами, присутніми в кабіні космічного корабля, і

© О.А. АРТЕМЕНКО, 2018

сильно відрізняється від подібного середовища, змодельованого на Землі. Підготовка біологічних об'єктів для експериментів у космосі та збереження їхнього стану щодо відновлення вимагають певних умов. На Землі для моделювання біологічних ефектів мікрогравітації в космічному польоті використовують механізми, які включають фізичні фактори, невід'ємні від зміненої гравітації: центрифугування, кліностакування, магнітні поля та інше. Але неможливість відтворити абсолютно точні умови космічного польоту є серйозною перешкодою для поліпшення досліджень в галузі гравітаційної і космічної біології (Herranz, 2014).

Відкриття гравічутливості рослинних клітин, не спеціалізованих для сприйняття сили тяжіння, є одним із досягнень сучасної біології. Варто розрізнити гравісприйняття та гравічутливість клітин. Перше передбачає активне використання гравітаційного стимулу спеціалізованими гравітрецепторними клітинами, наприклад статоцитів кореневого чохла, що призводить до нормальної просторової орієнтації органів рослин (гравітропізм). Друге – використання гравічутливості, що вказує на структурно-метаболичну стабільність клітин, які не є спеціалізованими для гравісприйняття та змін в умовах мікрогравітації (Kordyum, 2014).

Як відомо, проліферація та ріст клітин розтяганням – процеси, що забезпечують ріст та розвиток рослин і строго скоординовані в гравітаційному полі. Експерименти, проведені в космічному польоті, показали роз'єднання процесів клітинного росту й проліферації в клітинах апікальної меристеми коренів за відсутності сили тяжіння (Herranz, 2014). У дослідках з різними видами вищих рослин спостерігається різноманітність їхньої ростової реакції на вплив зміненої гравітації за умов космічних експериментів чи кліностакування: виявлено як стимуляцію росту, так і його пригнічення або відсутність помітних змін інтенсивності цього процесу (Aarrouf, 1999; Kordyum, 1997). Залежно від тривалості дії останнього може змінюватись швидкість росту кореня, яка збільшується на перших добах впливу і зменшується через дві доби (Aarrouf, 1999). Результати вивчення впливу кліностакування безпосередньо на процес поділу клітин також неоднозначні. При експозиції за таких умов тривалістю 2–9 діб спостерігалися пригнічення мітотичної активності, а при

короткочасній дії – стимуляція або незначні відмінності порівняно з контролем. Загалом в умовах мікрогравітації виявлено тенденцію до зниження мітотичного індексу, що призводить до скорочення тривалості клітинного циклу, зокрема інтерфази, та уповільнення росту клітин (Artemenko, 2005). Очевидно, що така тенденція до роз'єднання цих процесів може бути серйозним стресом для рослин і призводити до порушень їхнього розвитку (Medina, 2010).

Механізми геотропізму та гравічутливості є взаємодоповнюючими, перший з яких в основному чутливий до напрямку вектору гравітації, а другий пов'язаний з його величиною (Kordyum, 2014). На молекулярному рівні, щоб протидіяти такому виду стресу, як зміна гравітації, з яким рослина ніколи не зустрічалась раніше в ході еволюції, геном має бути достатньо стійким. Тут мультигенні родини та резервні гени мають перевагу в тому, що можуть змінюватись без ризику нашкодити клітині, і тому саме вони відіграють ключову роль у відповіді на гравітаційний стрес (Herranz, 2014). Подібно до найвідоміших мультигенних родин таких як гістонові, тубулінові, гемоглобінові належать і білки клітинного циклу.

Використання процесу кліностакування дає можливість частково відтворити умови космічного польоту і визначити вплив симульованої гравітації на події в клітині протягом клітинного циклу – вихід зі стану спокою та просування по G1- і S-фазах циклу. Для вивчення впливу кліностакування на активність клітинної проліферації необхідні дослідження як молекулярних механізмів регуляції клітинного циклу, так і розвитку рослин за умов зміненої гравітації.

Клітинний цикл управляється активністю комплексів циклін–циклін–залежна кіназа (ЦЗК). Таким чином, внутрішні та зовнішні сигнали регулюють активність цих комплексів, впливаючи на клітинну проліферацію у певних процесах розвитку організму та за різних умов оточуючого середовища. Діяльність комплексу циклін–ЦЗК супроводжується декількома механізмами: контролем транскрипції, деградацією білка, фосфорилуванням, активацією інгібіторів ЦЗК. Ці молекулярні механізми лежать в основі регуляції входу та виходу клітини з клітинного циклу, швидкості перебігу клітинного циклу або пересування за різними фазами клітинного циклу (Inagaki, 2011). Оскільки основними регуляторами

клітинного циклу еукаріот є цикліни і ЦЗК, припускається суттєва зміна саме їхнього рівня в клітинах за умов мікрогравітації та дії інших фізичних факторів (Artemenko, 2001).

Нами було встановлено, що уповільнення клітинного циклу за умов зміненої гравітації відбувається в основному за рахунок подовження G1-фази, як і придії інших несприятливих факторів. Ми досліджували експресію генів δ -циклінів в апікальній меристемі зародкових коренів гороху (*Pisum sativum* L.) у першому клітинному циклі в процесі індукції проростання насіння. Було показано, що процес кліностагування гальмує перехід клітин кореневої меристеми рослин від пресинтетичної фази першого клітинного циклу до фази синтезу ДНК внаслідок накопичення в клітині транскриптів $\delta 3$ -цикліну, який відповідає за вступ клітини у фазу синтезу (Artemenko, 2006). Вважається, що надекспресія гена $\delta 3$ -цикліна є відповіддю клітини на стресові умови і свідчить про вплив процесу кліностагування на клітинний цикл. Транскрипційна активність генів циклінів за умов кліностагування вища, ніж у контролі. Проте очевидна затримка переходу клітин до фази синтезу ДНК, наймовірніше, зумовлена неактивним станом ЦЗК-циклінового комплексу за рахунок дії циклін-кіназних інгібіторів (ЦКІ) (Healy, 2001; Morgan, 2007).

Активність цикліну D і похідних цієї групи може контролюватися дією як ендогенних, так і екзогенних чинників, а кліностагування є одним із таких, що впливають на експресію генів, які регулюють клітинний цикл (Artemenko, 2005). Ці дані можна використати як модель для подальшого дослідження комплексу циклін–циклін-залежна кіназа (ЦЗК) у вивченні молекулярних механізмів регуляції росту та проліферації.

Таким чином, збільшення рівня транскрипції певних генів клітинного циклу затримує перехід клітин з G1- до S- фази першого клітинного циклу, що призводить до зменшення проліферативного пулу. Але на наступних етапах росту проростків відбувається збільшення проліферативної активності, що може свідчити про роботу механізмів адаптації та відновлення нормального функціонування клітини (Artemenko, 2006).

Отже, аналізуючи отримані дані щодо росту, проліферативної активності клітин кореневої меристеми рослин та перебігу клітинного циклу за умов космічного польоту та кліностагування,

можна зробити наступні висновки. Суперечливість даних щодо ростових процесів та збільшення або зменшення проліферативної активності зумовлена різними термінами дослідження; протягом першого клітинного циклу відбувається збільшення транскрипції певних генів клітинного циклу і затримка переходу клітин від пресинтетичної фази до фази синтезу ДНК, що призводить до зниження проліферативного пулу. Однак на пізніших етапах росту проліферативна активність збільшується, що може свідчити про роботу механізмів адаптації і відновлення нормального життєзабезпечення клітини. Зміни характеру росту кореня, ймовірно, пов'язані зі змінами гормонального балансу клітин меристем, швидкість поділу яких є одним з основних чинників, що визначають інтенсивність росту рослин. Крім того, кліностагування лише імітує мікрогравітацію, тоді як в умовах реального космічного польоту додаються ще дія космічного опромінення, знижений тиск, шум, вібрації, прискорення тощо. Такі розбіжності в умовах проведення експериментів пояснюють різноманітність описаних результатів стосовно цього питання, проте всі вони допомагають встановити цілісність і повноту всього процесу клітинного циклу в умовах зміненої гравітації, а також висвітлюють проблеми й питання, над якими ще потрібно працювати.

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Aarouf J., Schoevaert D., Maldiney R., Perbal G. Changes in hormonal balance and meristematic activity in primary root tips on the slowly rotating clinostat and their effect on the development of the rapeseed root system. *Physiol. Plant.*, 1999, 105: 708–718.
- Artemenko O.A. *Ukr. Bot. J.*, 2001, 58(4): 415–421. [Artemenko O.A. Сучасні уявлення про регуляцію клітинного циклу у рослин. *Укр. бот. журн.*, 2001, 58(4): 415–421].
- Artemenko O.A., Troyan V.M., Azarskova M.V. *Ukr. Bot. J.*, 2005, 62(1): 122–130. [Artemenko O.A., Троян В.М., Азарскова М.В. Вплив кліностагування на конформаційний стан хроматину та кінетику першого клітинного циклу при проростанні насіння гороху. *Укр. бот. журн.*, 2005, 62(1): 122–130].
- Artemenko O.A. *Tsitologiya ta genetika*, 2006, 40(2): 36–41. [Artemenko O.A. Експресія генів $\delta 1$ - та $\delta 3$ -циклінів в кореневій меристемі *Pisum sativum* L. за умов кліностагування. *Цитологія та генетика*, 2006, 40(2): 36–41].
- Healy J.M., Menges M., Doonan J.H., Murray J.A. The Arabidopsis D-type cyclins CycD2 and CycD3 both interact in vivo with the PSTAIRE cyclin-dependent

- kinase Cdc2a but are differentially controlled. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276: 7041–7047.
- Herranz R., Medina F.J. Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments. *Plant Biol. (Stuttg.)*, 2014, 16(1): 23–30.
- Inagaki S., Umeda M. Cell-cycle control and plant development. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, 2011, 291: 227–261.
- Kordyum E.L. Biology of plant cell microgravity and under clinostating. *Int. Rev. Cytol.*, 1997, 171: 1–72.
- Kordyum E.L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *J. Plant Biology*, 2014, 16(1): 79–90.
- Medina F., Herranz R. Microgravity environment uncouples cell growth and cell proliferation in root meristematic cells. The mediator role of auxin. *Plant Signal Behav.*, 2010, 5(2): 176–179.
- Merkys A.J., Laurinavicius R.S. Plant growth in space. In: *Fundamentals of Space Biology*. Eds M. Asashima, G.M. Malacinski. Tokyo: Japan. Sci. Soc. Press; Berlin: Springer Verlag, 1990, pp. 69–83.
- Morgan D. O. *The cell cycle: principles of control*. London: New Science Press, 2007, 297 p.

Рекомендує до друку Надійшла 24.01.2017
Є.Л. Кордюм

Артеменко О.А. **Змінення гравітації як фактор впливу на початок клітинного циклу рослин.** Укр. бот. журн., 2018, 75(3): 283–286.

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01004, Україна

Представлена стаття є оглядом літератури з метою визначення впливу зміненої гравітації на проліферативну активність рослинних клітин. На основі глибокого й всебічного вивчення впливу абіотичних чинників на живі організми та реакції їхньої адаптації в умовах космічного польоту можна спрогнозувати надійність систем життєзабезпечення. Вищі рослини та інші фотосинтезуючі організми є ключовими компонентами біорегенеративних систем для забезпечення необхідної кількості якісної їжі, підтримки належної атмосфери, утилізації відходів та забезпечення питною водою. Дослідження в галузі космічної біології сприятимуть вирішенню фундаментальних завдань зі створення керованих систем життєзабезпечення людини в пілотованих космічних кораблях та розвитку біотехнології. У статті проаналізовано взаємозв'язок між проліферативним пулом і ростом клітин в умовах космічного польоту й кліностакування. Для вивчення впливу мікрогравітації на активність клітинної проліферації необхідні дослідження як молекулярних механізмів регуляції клітинного циклу, так і розвитку рослин за цих умов. Використання процесу кліностакування надасть можливість виявити вплив симульованої гравітації на події клітинного циклу протягом цього процесу – вихід зі стану спокою та просування по G1- і S-фазах циклу. Найбільшу зацікавленість для дослідження викликають гени δ-циклінів (що належать до класу

D-циклінів), які важливі для проходження клітиною пресинтетичної фази клітинного циклу і відповідають за вихід клітини зі стану спокою та перехід до фази синтезу ДНК. Крім того, у дослідах з різними видами вищих рослин спостерігається різноманітність їхньої ростової реакції на вплив зміненої гравітації в умовах космічних експериментів чи при кліностакуванні. Виявлено як стимуляцію росту, так і його пригнічення, або ж відсутність помітних змін інтенсивності цього процесу.

Ключові слова: клітинний цикл, мікрогравітація, кліностакування, проліферація, гравічутливість, цикліни, експресія генів

Артеменко О.А. **Изменение гравитации как фактор влияния на начало клеточного цикла растений.** Укр. бот. журн., 2018, 75(3): 283–286.

Інститут ботаніки ім. Н.Г. Холодного НАН України
ул. Терещенковская, 2, Киев 01004, Украина

Представленная статья является обзором литературы с целью определения влияния измененной гравитации на пролиферативную активность растительных клеток. На основании глубокого и всестороннего изучения влияния абиотических факторов на живые организмы и реакции их адаптации в условиях космического полета можно спрогнозировать надежность систем жизнеобеспечения. Высшие растения и другие фотосинтезирующие организмы являются ключевыми компонентами биорегенеративных систем для обеспечения нужного количества качественной еды, поддержания необходимой атмосферы, утилизации отходов и обеспечения питьевой водой. В статье проанализирована взаимосвязь между пролиферативным пулом и ростом клеток в условиях космического полета и клиностакирования. Для изучения влияния микрогравитации на активность клеточной пролиферации необходимы исследования как молекулярных механизмов регуляции клеточного цикла, так и развития растений в этих условиях. Использование процесса клиностакирования поможет выявить влияние симулированной гравитации на события в клетке в течение клеточного цикла – выход из состояния покоя и продвижение по G1- и S-фазам цикла. Наибольшую заинтересованность для исследования вызывают гены δ-циклинов (принадлежащие к классу D-циклинов), которые важны для прохождения клеткой пресинтетической фазы цикла и отвечают за выход клетки из состояния покоя и переход к фазе синтеза ДНК. Кроме того, в экспериментах с разными видами высших растений наблюдается разнообразие их ростовой реакции на влияние измененной гравитации в условиях космических экспериментов или при клиностакировании: выявлены как стимуляция роста, так и его угнетение, или же отсутствие заметных изменений интенсивности этого процесса.

Ключевые слова: клеточный цикл, микрогравитация, клиностакирование, пролиферация, гравичувствительность, циклины, генная экспресия